

徐兵划, 钱春桃, 王红英, 等. 甜瓜蔓枯病抗性聚合材料中防卫基因的表达分析[J]. 南京农业大学学报, 2014, 37(5):63-68

甜瓜蔓枯病抗性聚合材料中防卫基因的表达分析

徐兵划¹, 钱春桃^{1*}, 王红英¹, 毕研飞¹, 姜群峰¹, 张永兵², 伊鸿平², 陈劲枫¹

(1. 南京农业大学园艺学院/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095;

2. 新疆农业科学院哈密瓜研究中心, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:蔓枯病是危害甜瓜的一种真菌性病害,由于存在生理小种的变异,携带单个抗病基因的甜瓜品种在生产中表现出抗性不足,本研究的目的是评价聚合基因材料的抗性,并分析相关防卫基因的差异表达。利用5份抗源创制8份聚合抗病基因材料,在采用梯度浓度孢子液接种鉴定的基础上,利用RT-PCR技术研究接种后苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因、抗坏血酸氧化酶(APX)基因、几丁质酶(CHO)基因等防卫基因在聚合基因材料中的表达情况。结果表明:当接种浓度为 5×10^9 mL⁻¹时,单一抗源已开始出现感病现象,而聚合基因材料仍表现高抗或抗,其中890-398(PI511890×PI482398)和145-471(PI420145×PI140471)抗性最高。890-398中PAL基因表达高峰在1d,早于PI420145和PI511890的2d;抗、感及聚合甜瓜材料中的APX基因表达均在接种后3d达到高峰,890-398中APX基因的表达水平约为对照‘白皮脆’的13.31倍,PI420145和PI511890中APX基因表达水平约为对照的10.00和9.38倍;CHO基因表达最高峰时,890-398中CHO基因的表达量约为对照的28.46倍,PI420145和PI511890约为对照的8.03和20.43倍。结论:甜瓜抗蔓枯病基因的聚合能提高其对蔓枯病的抗性,防卫基因在聚合材料中的高表达或早表达使其表现较高的抗性。本文创制的聚合基因材料可用于甜瓜的抗蔓枯病聚合育种,对甜瓜抗病育种具有重要意义。

关键词:甜瓜;蔓枯病;基因聚合;抗性鉴定;防卫基因表达

中图分类号:S652.9

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2014)05-0063-06

The expression analysis of defense genes in the genes pyramided melon(*Cucumis melo* L.) resistance to gummy stem blight

XU Binghua¹, QIAN Chuntao^{1*}, WANG Hongying¹, BI Yanfei¹, LOU Qunfeng¹,
ZHANG Yongbing², YI Hongping², CHEN Jinfeng¹

(1. College of Horticulture/State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Center of Hami Melon, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830000, China)

Abstract: Gummy stem blight (GSB) is caused by *Didymella bryoniae* and is a serious fungal disease of melon (*Cucumis melo* L.). The resistance of the melon varieties that carry one GSB resistance gene might be reduced or even lost, because of the variation of *D. bryoniae* isolates. The objectives of this study were to critically evaluate the resistance to GSB of pyramided genes materials and to characterize the expression patterns of three defense genes associated with the resistance to GSB. We obtained eight materials combining two GSB resistance genes through the crosses of five single resistance gene sources. Seedlings were inoculated with gradient spores concentration of *D. bryoniae*. Based on the reaction of inoculation, we analyzed the expression dynamic of the defense genes by the RT-PCR method. The defense genes included phenylalanine ammonia-lyase (PAL) gene, ascorbic acid oxidase (APX) gene, chitinase (CHO) gene. The results showed that when the spores concentration was 5×10^9 mL⁻¹, the single-sources began to appear susceptible and the pyramided genes materials still showed high resistance or resistance. The pyramided genes materials 890-398 (PI511890×PI482398) and 145-471 (PI420145×PI140471) showed the highest resistance. The expression peak of PAL gene in 890-398 was at 1 d which was earlier than 2 d in PI420145 and PI511890. The peaks of APX gene expression of the resistance susceptible and genes pyramiding source were at 3 d after inoculation. The APX gene expression in 890-398 was approximately 13.31 times of the control ‘Baipicui’, and PI420145 and PI511890 was about 10.00 and 9.38 times of the control, respectively. While CHO gene expression was at peak, the CHO gene expression in 890-398 was approximately 28.46 times of the control, PI420145 and PI511890 were about 8.03 and 20.43 times of the control, respectively. Conclusions: This study showed that pyramiding GSB resistance genes could enhance their resistance to GSB. The higher and earlier expression of defense genes in the pyrami-

收稿日期:2014-01-23

基金项目:国家自然科学基金新疆联合基金项目(U1178307)

作者简介:徐兵划,硕士研究生,*通信作者:钱春桃,副教授,主要从事蔬菜遗传育种与生物技术研究,Tel:025-84396279,E-mail:chuntaoq@njau.edu.cn.

ded genes materials can provide higher resistance. The pyramided hybrids can be used for pyramiding breeding of melon.

Keywords: melon (*Cucumis melon* L.); gummy stem blight; genes pyramiding; resistance identification; defense genes expression

甜瓜蔓枯病是一种真菌性病害,病原菌为亚隔孢壳属(*Didymella*)的 *D. bryoniae*(Auersw),其存在生理小种的分化,若品种仅携带单个抗蔓枯病基因,则会导致其抗性降低甚至失去抗性^[1]。因此,该病每年都给甜瓜的生产造成巨大的危害,在大田的发病率可达 20%~30%,在连作地及温室高达 80%,严重时甚至会导致绝产^[2-5]。

国内外研究表明:不同抗性基因的聚合有助于提高品种的抗性,并且可以扩大抗谱^[6-7],因此培育抗性相对持久的品种是提高品种抗性的有效途径之一。国际上常用的甜瓜抗蔓枯病材料为 PI140471、PI157082、PI511890、PI482398 和 PI482399^[4],其抗性基因分别命名为 *Gsb-1*、*Gsb-2*、*Gsb-3*、*Gsb-4* 和 *gsb-5*; PI420145 则是本课题组筛选的 1 份新抗源^[8]。但是,目前为止仍未见甜瓜抗蔓枯病聚合基因材料及其抗性研究的报道。

相关研究表明:防卫基因的表达与植物的抗病性密切相关^[9],当植物受到病原菌侵染时防卫基因被诱导表达,以提高植物的抗性,且其表达量和表达时间与植物抗性呈正相关^[10]。目前研究较多的防卫基因有苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因、超氧化物歧化酶(SOD)基因、抗坏血酸过氧化物酶(APX)基因、几丁质酶(CHO)基因等^[11-13]。前人在抗性基因^[14-16]、生理生化^[17-19]等方面研究了甜瓜对蔓枯病的抗性机制,而相关防卫基因与甜瓜对蔓枯病抗性的研究较少。本文对 8 份聚合基因材料苗期接种鉴定,初步研究了甜瓜蔓枯病聚合基因材料的抗性,并利用 RT-PCR 技术,对 PAL、APX 和 CHO 3 个防卫基因在聚合材料和抗、感甜瓜材料中的差异表达进行分析,旨在为揭示甜瓜抗病分子机制并有效开展甜瓜抗病育种和抗病基因工程提供有益的参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

5 份甜瓜蔓枯病抗源 PI420145、PI140471、PI157082、PI511890 和 PI482398; 由 5 份抗源杂交 PI420145×PI140471、PI420145×PI157082、PI420145×PI511890、PI420145×PI482398、PI157082×PI420145、PI157082×PI511890、PI157082×PI482398、PI511890×PI482398 获得的 8 份聚合基因材料: 145-471、145-082、145-890、145-398、082-145、082-890、082-398 和 890-398; 感蔓枯病甜瓜品种‘白皮脆’,由新疆农业科学院提供,本实验室多代自交保存。材料均种植于南京农业大学园艺学院牌楼试验基地的温室 内。

1.2 方 法

1.2.1 蔓枯病接种鉴定 蔓枯病菌采用 A1 生理小种,在 PDA 培养基上 25℃ 黑暗培养 7 d 后,再进行 4 d 间歇紫外灯(12 h 紫外/12 h 黑暗)培养,用血球计数板将孢子液配成 5×10^5 、 5×10^7 和 5×10^9 mL⁻¹ 的孢子悬浮液。参照 Zhang 等^[1]的方法在苗期 3~4 片叶时接种,于接种后 7 和 10 d 调查统计病情。叶片侵染分级标准为:0 级:无可见侵染;1 级:老叶上边缘坏死或斑点 < 10 mm,新叶无病;2 级:老叶同上,新叶边缘坏死;3 级:所有叶均有感染,叶坏死面积 < 25%;4 级:25% ≤ 叶坏死面积 ≤ 50%;5 级:叶坏死面积 > 50%。

根据平均病情级别数(RI)确定蔓枯病抗性级别:高抗(HR):RI < 1.0;抗(R):1.0 ≤ RI < 2.0;中抗(MR):2.0 ≤ RI < 3.0;感(S):3.0 ≤ RI < 4.0;高感(HS):RI ≥ 4.0。平均病级按以下公式计算:RI = \sum (级值×株数)/总株数。

根据接种鉴定结果,选取能准确区分聚合基因材料和单一抗源抗蔓枯病差异的接种浓度进行再次接种。接种后 0(对照)、0.5、1、2、3、5 和 7 d 取样,进行防卫基因的表达分析,每次均取刚展开的嫩叶,每个取样点设 3 个重复。样品取后立即于液氮中速冻,后贮存于 -70℃ 超低温冰箱待用。

1.2.2 防卫基因及其引物设计 从 GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中搜索苯丙氨酸解氨酶基因、抗坏血酸过氧化物酶基因和几丁质酶基因的 mRNA 序列,采用 Primer Premier 6.0 引物软件设计引物。引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。内参基因 *Cm-Actin* 参照 El-Sharkawy 等^[20]的方法。有关防卫基因及其引物序列详见表 1。

表 1 防卫基因表达分析的引物序列及产物大小

Table 1 Primer sequence and product sizes by expression analysis of defense genes

基因 Gene	登录号 Accession number	引物序列 Primer sequences	扩增长度/bp Product length
<i>PAL</i>	X76130.1	5'TCCTTAACCACAATGTCACACCTT3'; 5'CTCCACTATCATGCCAGCGTAT3'	183
<i>APX</i>	EF693949.2	5'GTGCTCCTCTAATGCTTCGTCTT3'; 5'CTGTTGCTTGATCGGCTCAA3'	167
<i>CHT</i>	AF241266.1	5'CCATCTTCTTCTCCTCTCTCT3'; 5'TTGACCGCTGCCGAAGGAT3'	164
<i>Cm-Actin</i>	FJ763186.1	5'GTGATGGTGTGAGTCACACTGTTT3'; 5'ACGACCAGCAAGGTCCAAAC3'	82

1.2.3 RNA 提取和 cDNA 合成 用 RNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司)提取甜瓜叶片中的总 RNA,用 DNase I 除去基因组 DNA,采用反转录试剂盒(TaKaRa 公司)进行反转录得到 cDNA 用于基因的特异表达分析,方法参照试剂盒说明书。

1.2.4 RT-PCR 扩增 用 SYBR Green 试剂盒(TaKaRa 公司)进行实时荧光定量 PCR 分析。25 μ L 反应体系为: SYBR[®] Premix(2 \times) 12.5 μ L, 上、下游引物(2.5 μ mol \cdot L⁻¹) 各 0.8 μ L, cDNA 1.0 μ L, ddH₂O 9.9 μ L。每样本 3 次重复。RT-PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 65 $^{\circ}$ C 30 s, 40 个循环, 在 65 $^{\circ}$ C 延伸步骤收集荧光信号。采用 2^{- $\Delta\Delta$ C_T} 法进行相对定量数据分析。

2 结果与分析

2.1 聚合基因材料和抗、感甜瓜材料表型的鉴定

由表 2 可以看出: 当接种浓度为 5 \times 10⁵ mL⁻¹ 时, 只有感病材料‘白皮脆’出现病症, 抗源和聚合基因材料都无发病症状。当接种浓度为 5 \times 10⁷ mL⁻¹ 时, 除 PI157082 平均病级(RI) 为 2.0 且抗性级别为中抗之外, 其他抗源平均病级均为 1.9 且抗性级别为抗; 聚合抗源 145-890、145-082 和 082-145 的平均病级分别为 1.8、1.8 和 1.9, 抗性级别为抗; 145-471、890-398、082-398、145-398 和 082-890 平均病级 RI<1.0, 抗性级别为高抗。当接种浓度为 5 \times 10⁹ mL⁻¹ 时, 不同聚合基因材料出现不同等级的病症, 而 145-471 和 890-398 RI 分别为 0.13 和 0.9, 仍为高抗(图 1)。

表 2 聚合基因材料和抗、感甜瓜材料的病级结果统计

Table 2 Disease ratings for gummy stem blight of the pyramided genes and resistance susceptible materials

材料 Material	接种浓度/mL ⁻¹ The concentration of spore suspension								
	5 \times 10 ⁵			5 \times 10 ⁷			5 \times 10 ⁹		
	株数 Number of plants	病级范围 Disease rating range	平均病级(RI) The average of disease rating	株数 Number of plants	病级范围 Disease rating range	平均病级(RI) The average of disease rating	株数 Number of plants	病级范围 Disease rating range	平均病级(RI) The average of disease rating
145-471	30	0	0	31	0~1	0.06	30	0~1	0.13
890-398	29	0	0	30	0~1	0.10	29	0~1	0.90
082-398	34	0	0	34	0~1	0.80	33	1~2	1.80
145-398	32	0	0	32	0~1	0.80	30	1~2	1.90
082-890	30	0	0	31	0~1	0.80	31	1~2	1.90
145-890	31	0	0	31	1~2	1.80	30	2~3	2.80
145-082	30	0	0	31	1~3	1.80	30	2~3	2.90
082-145	30	0	0	31	1~3	1.90	30	2~3	2.90
PI140471	28	0	0	29	1~2	1.90	28	2~3	2.90
PI482398	28	0	0	28	1~2	1.90	28	2~3	2.90
PI511890	28	0	0	28	1~2	1.90	28	2~3	2.90
PI157082	34	0	0	34	1~2	2.00	33	2~3	2.90
PI420145	30	0	0	32	1~2	1.90	30	2~3	3.10
白皮脆 Baipicui	30	3~5	3.4	31	4~5	4.60	30	4~5	4.90

2.2 聚合基因材料和抗、感甜瓜材料防卫反应基因的差异表达

从 8 份聚合基因材料中选取抗性较高的 890-398, 从 5 份抗源中选取 PI420145 和 PI511890, 以感病基因型‘白皮脆’为对照, 进行防卫基因的差异表达分析。

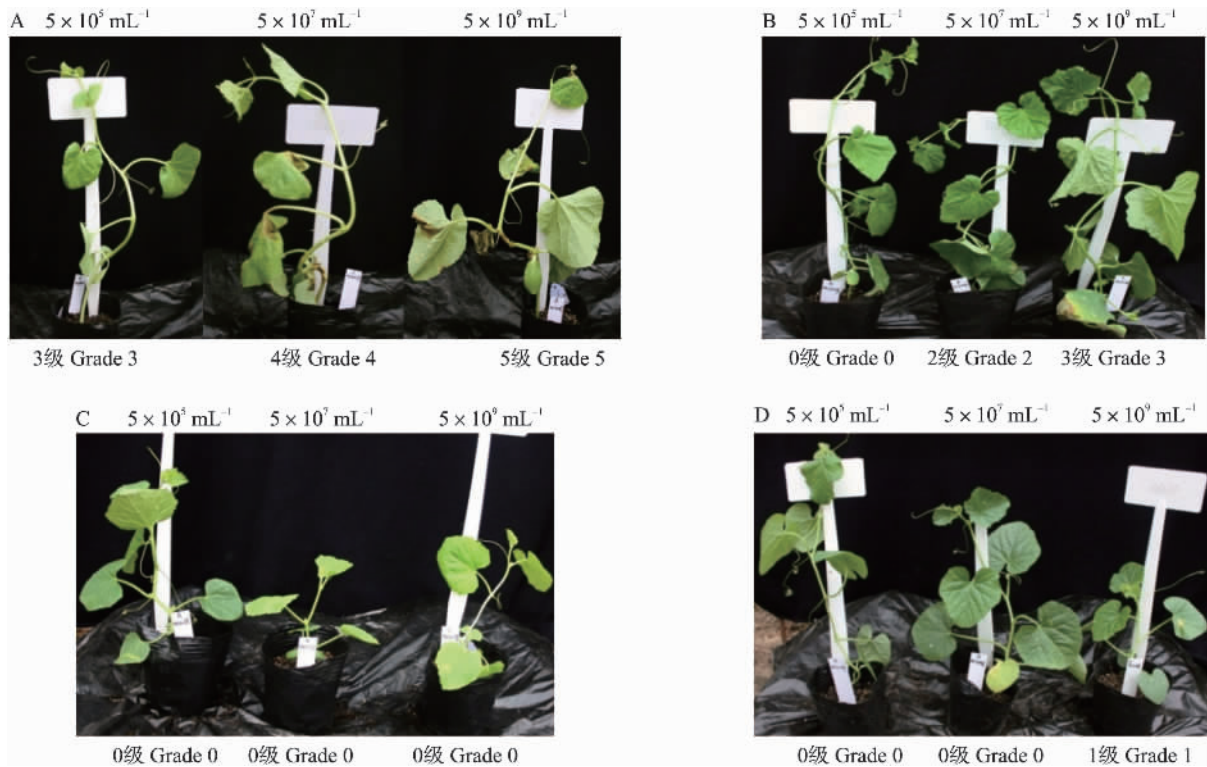


图1 甜瓜感病材料、抗源和聚合基因材料接种蔓枯病菌后的病情统计

Fig. 1 Disease statistics of susceptible, resistance and the pyramided genes materials after inoculation of *Didymella bryoniae*

A. 白皮脆 Baipicui; B. PI420145; C. 145-471; D. 890-398

2.2.1 PAL 基因 如图2-A所示,接种后,聚合基因材料、抗源及感病甜瓜材料 *PAL* 基因的表达均呈先上升,随后逐渐下降趋于正常,在7 d时表达量又有所上升的趋势。聚合基因材料890-398中 *PAL* 基因的表达量在1 d时达到最高峰,此时其表达水平约为对照的51.76倍。抗源PI420145和PI511890均在2 d时达到峰值,表达水平分别为对照的1.98和2.25倍。在抗性基因型中 *PAL* 基因的表达量高于感病基因型中 *PAL* 的表达量。

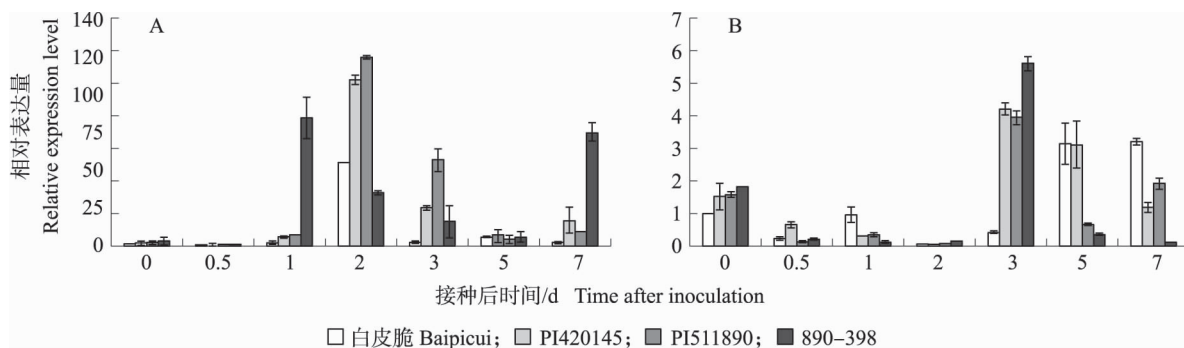


图2 接种蔓枯病菌后甜瓜 *PAL* (A) 和 *APX* (B) 基因的相对表达量

Fig. 2 The relative expression level of *PAL* (A) and *APX* (B) gene of melon after inoculation of *D. bryoniae*

以‘白皮脆’0 h的表达量为1。The relative expression level of ‘Baipicui’ at 0 h is as 1. The same as follows.

2.2.2 APX 基因 如图2-B所示,在蔓枯病菌胁迫下,在所测试的0~7 d时间内, *APX* 基因的相对表达量在抗源、聚合基因材料中先下降随后上升,3 d达到最高峰,然后又下降。表达最高峰时,890-398中 *APX* 基因的表达水平约为对照的13.31倍,抗源PI420145和PI511890中 *APX* 基因表达水平约为对照的10.00和9.38倍。在感病基因型中 *APX* 基因呈先下降后上升的趋势,在胁迫5 d时达到最高峰,一直持续到7 d。在接种前,聚合基因材料中 *APX* 基因表达量高于抗源,且都高于感病基因型。

2.2.3 CHT 基因 如图3所示,接种蔓枯病菌后,CHT 基因的表达量在抗、感材料和聚合基因材料中均先上升后下降,随后又上升的趋势,抗源和聚合基因材料中 CHT 基因在 3 d 表达量最高,感病基因型中 CHT 基因在 7 d 时表达量最高。最高峰时 890-398 中 CHT 基因的表达量约为对照的 28.46 倍,PI420145 和 PI511890 分别约为对照的 8.03 和 20.43 倍。在 0.5、3 和 7 d 时 890-398 中 CHT 基因的表达量最高,且都高于 PI420145 和 PI511890。除 1 d 时,抗性基因型中 CHT 基因的表达量都高于感病基因型。

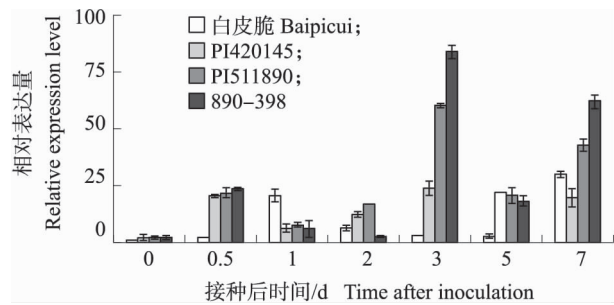


图3 接种蔓枯病菌后甜瓜 CHT 基因的相对表达量
Fig. 3 The relative expression of CHT gene of melon after inoculation of *D. bryoniae*

3 讨论

传统甜瓜苗期接种鉴定孢子液浓度为 $5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ [1,3], 其只能区分出抗、感材料的差异,不能准确区分抗性材料之间抗蔓枯病能力的差异。本试验采用梯度浓度孢子液接种法,以准确鉴定抗源和聚合基因材料抗性能力差异。本结果表明: $5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ 的孢子液浓度可以鉴定出聚合基因材料抗性高于抗源 $5 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ 进一步鉴定出了聚合基因材料之间的蔓枯病抗性差异。因此,梯度浓度孢子液接种法更能准确鉴定抗蔓枯病材料之间的抗性能力差异。

本试验通过对接种后聚合材料和单一抗源中防卫基因的表达分析,聚合基因材料中 PAL、APX 和 CHT 基因的表达量高于或表达时间早于单一抗源,且都高于感病基因型。防卫基因的高表达或早表达,为植株在病原菌侵染的初期提供了较高的防御能力 [10,21],这在一定程度上揭示了聚合基因材料抗性高于单一抗源的原因。本研究结果与前人关于甜瓜抗蔓枯病的生理生化和防卫基因的研究存在一定程度的一致性,也有不同之处。本研究中,接种初期(0~0.5 d),甜瓜叶片中 PAL、APX 和 CHT 基因表达较少,可能是由于病原菌尚未大量侵染叶片,还处于两者相互识别和适应阶段,这种表达动态与前人研究结果相吻合 [17-19,22-23]。而在 1~3 d 阶段,病原菌的疯狂侵染已引起甜瓜叶片防卫基因的大量表达,因此 PAL、APX 和 CHT 基因均在此阶段出现表达高峰。另外,接种结果表明:在 3 d 时,被感染的叶片已开始出现蔓枯病菌侵染的迹象,接种叶片已开始褪绿变黄,并出现水浸状病斑,这些被侵染的叶片的症状的转变与内在的基因表达变化基本对应。王红英等 [18] 研究发现接种蔓枯病菌后,抗、感甜瓜 PAL 活性均呈上升趋势,在 4 d 时达到峰值随后逐渐下降,抗病甜瓜接种前后活性均高于感病甜瓜。任海英等 [17] 发现抗性不同的甜瓜品种感染蔓枯病后,APX 基因的转录水平都发生显著变化,在抗性品种中 APX 转录水平有的升高,有的降低,感病品种 APX 转录水平也是有的升高,有的降低。本研究与王红英等 [18] 研究结果是一致的,而与任海英等 [17] 的研究结果不同。本研究中抗、感材料接种后 APX 基因表达量都会有短时间的下降,然后上升,并且其表达量越高,抗性越强,这可能与不同甜瓜材料、接种蔓枯病菌种或接种时间等有关,也说明,APX 很可能与其他多种信号网络交叉互作调控甜瓜与蔓枯病菌的互作过程。并且 PAL、APX 和 CHT 基因的表达趋势不断变化,这种可变的代谢过程既能保证植物体有效地抵御病原菌侵害,又可避免因相关次级代谢产物的过度积累而对自身造成损害,同时还可降低病原菌的适应性。

本研究通过聚合不同抗蔓枯病基因获得抗性提高的聚合基因材料,并筛选出高抗组合 890-398 和 145-471。创制了多份甜瓜抗蔓枯病聚合基因材料,解决了现有抗蔓枯病资源抗性不足的问题,确定了 2 个抗性基因互作呈现正效应的聚合材料,其可用于甜瓜抗蔓枯病聚合育种,为获得新的抗性品系奠定了基础。

参考文献 Reference:

- [1] Zhang Y P, Molly K, Anagnostou K. Screening melon (*Cucumis melo*) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field [J]. HortScience, 1997, 32(1): 117-121
- [2] Crosby K M. Screening *Cucumis melo* L. agrestis germplasm for resistance to *Monosporascus cannonballus* [J]. Subtropical Plant Science, 2001, 53: 24-26
- [3] Frantz J D, Jahn M M. Five independent loci each control monogenic resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Theor

- Appl Genet 2004 ,108: 1033-1038
- [4] Tsutsumi C Y ,Silva N. Screening of melon populations for resistance to *Didymella bryonia* in greenhouse and plastic tunnel conditions[J]. Biology and Technology 2004 ,47(2) : 171-177
- [5] Wako T ,Sakata Y ,Sugiyama M ,et al. Identification of melon accessions resistant to gummy stem blight and genetic analysis of the resistance using an efficient technique for seedling test[J]. Acta Hort 2002 ,588: 161-164
- [6] Hu J ,Cheng M X ,Gao G J ,et al. Pyramiding and evaluation of three dominant brown planthopper resistance genes in the elite *indica* rice 9311 and its hybrids[J]. Pest Manag Sci 2013 ,69: 802-808
- [7] 朱明涛,孙亚林,郑莎,等. 分子标记辅助聚合番茄抗病基因育种[J]. 园艺学报 2010 ,37(9) : 1416-1422
[Zhu M T ,Sun Y L ,Zheng S ,et al. Pyramiding disease resistance genes by molecular marker-assisted selection in tomato[J]. Acta Horticulturae Sinica 2010 ,37(9) : 1416-1422(in Chinese with English abstract)]
- [8] Wolukau J N ,Zhou X H ,Li Y ,et al. Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076 ,420145 ,and 323498[J]. HortScience 2007 ,42(2) : 215-221
- [9] Nasrin Akhter Banu M ,Anamul Hoque M ,Watanabe-Sugimoto M ,et al. Proline and glycinebetaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress[J]. Journal of Plant Physiology 2009 ,166: 146-156
- [10] Bell J N ,Ryder T B ,Wingate V P ,et al. Differential accumulation of plant defense gene transcripts in a compatible and an incompatible plant-pathogen interaction[J]. Molecular and Cellular Biology ,1986 ,6(5) : 1615-1623
- [11] 高雪. 植物苯丙氨酸解氨酶研究进展[J]. 现代农业科技 2009(1) : 30-34
[Gao X. Zhiwu ben bing an suan jie an mei yan jiu jin zhan[J]. Xiandai Nongye Keji 2009(1) : 30-34(in Chinese)]
- [12] Delledonne M ,Zecier J ,Marocco A ,et al. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen in intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response[J]. Proc Natl Acad Sci USA 2001 ,98(32) : 13454-13459
- [13] 李春娟,单世华,许婷婷,等. 几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶基因研究进展[J]. 生物技术通讯 2004 ,15(5) : 502-505
[Li C J ,Shan S H ,Xu T T ,et al. Research development of chitinase and β -1,3-glucanase genes[J]. Letters in Biotechnology 2004 ,15(5) : 502-505(in Chinese with English abstract)]
- [14] 刘文睿,张永兵,周晓慧,等. 甜瓜抗蔓枯病基因 *Gsb-1* 的分子标记及其与抗源 PI420145 中抗病基因的关系[J]. 中国瓜菜 2009(5) : 1-4
[Liu W R ,Zhang Y B ,Zhou X H ,et al. SSR marker linked to gummy stem blight resistance gene *Gsb-1* in melon and its allelism with resistance gene from PI 420145[J]. China Cucurbits and Vegetables 2009(5) : 1-4(in Chinese with English abstract)]
- [15] 张永兵,陈劲枫,伊鸿平,等. 甜瓜抗蔓枯病基因 *Gsb-2* 的 ISSR 分子标记[J]. 果树学报 2011 ,28(2) : 296-300
[Zhang Y B ,Chen J F ,Yi H P ,et al. ISSR marker linked to gene *Gsb-2* resistant to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo*) [J]. Journal of Fruit Science 2011 ,28(2) : 296-300(in Chinese with English abstract)]
- [16] 张学军,张永兵,张龔,等. 甜瓜抗蔓枯病基因 *Gsb-3* 的 ISSR 分子标记[J]. 西北植物学报 2013 ,33(2) : 0261-0265
[Zhang X J ,Zhang Y B ,Zhang Y ,et al. ISSR marker linked to *Gsb-3* resistance of gummy stem blight (*Didymella bryoniae*) in melon[J]. Acta Bot Boreal Occident Sin 2013 ,33(2) : 0261-0265(in Chinese with English abstract)]
- [17] 任海英,李岗,方丽,等. 不同甜瓜品种蔓枯病抗性与其抗坏血酸氧化酶基因表达的关系[J]. 植物病理学报 2012 ,42(3) : 306-310
[Ren H Y ,Li G ,Fang L ,et al. Relationship between the resistance to gummy stem blight in the different varieties of melon and the transcript profile of ascorbate peroxidase gene[J]. Acta Phytopathologica Sinica 2012 ,42(3) : 306-310(in Chinese with English abstract)]
- [18] 王红英,钱春桃,张永兵,等. 不同抗性甜瓜接种蔓枯病菌后若干生理指标的变化[J]. 中国瓜菜 2012 ,25(1) : 7-10
[Wang H Y ,Qian C T ,Zhang Y B ,et al. Changes of several physiological characters in melons with different resistance after inoculation with *Didymella bryoniae*[J]. China Cucurbits and Vegetables 2012 ,25(1) : 7-10(in Chinese with English abstract)]
- [19] 周晓慧,Wolukau J N ,李英,等. 甜瓜蔓枯病抗性与 SOD、CAT 和 POD 活性变化的关系[J]. 中国瓜菜 2007(2) : 4-6
[Zhou X H ,Wolukau J N ,Li Y ,et al. Relationships between activity changes of superoxide dismutases ,catalase ,peroxidase and resistance to gummy stem blight in melon[J]. China Cucurbits and Vegetables 2007(2) : 4-6(in Chinese with English abstract)]
- [20] El-Sharkawy I ,Manriquez D ,Flores F B ,et al. Functional characterization of a melon alcohol acyl-transferase gene family involved in the biosynthesis of ester volatiles. Identification of the crucial role of a threonine residue for enzyme activity[J]. Plant Mol Biol 2005 ,59: 345-362
- [21] 董汉松. 植物抗病防卫基因表达调控与诱导抗性遗传的机制[J]. 植物病理学报 ,1996 ,26(4) : 289-293
[Dong H S. Expression regulation of plant disease defense genes in relation with heritability of induced resistance[J]. Acta Phytopathologica Sinica ,1996 ,26(4) : 289-293(in Chinese with English abstract)]
- [22] 苗永美,王万洋,杨海林,等. 外源 Ca^{2+} 、SA 和 ABA 缓解甜瓜低温胁迫伤害的生理作用[J]. 南京农业大学学报 2013 ,36(4) : 25-29. doi: 10. 7685/j. issn. 1000-2030. 2013. 04. 005
[Miao Y M ,Wang W Y ,Yang H L ,et al. Physiological effects of exogenous Ca^{2+} ,SA and ABA in alleviating low temperature stress of melon seedlings[J]. Journal of Nanjing Agricultural University 2013 ,36(4) : 25-29(in Chinese with English abstract)]
- [23] 缪卫国,宋从凤,乔子辰,等. 转 *hpal_{Xoo}* 基因棉花花活性氧产生及防卫相关基因的表达[J]. 南京农业大学学报 2011 ,34(2) : 61-66. doi: 10. 7685/j. issn. 1000-2030. 2011. 02. 011
[Miu W G ,Song C F ,Qiao Z C ,et al. The generation of reactive oxygen intermediates and expression of defense genes in transgenic *hpal_{Xoo}* cotton[J]. Journal of Nanjing Agricultural University 2011 ,34(2) : 61-66(in Chinese with English abstract)]

责任编辑: 范雪梅